

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN  
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad  
Intellectual  
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional  
4 de Marzo de 2004 (04.03.2004)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional  
**WO 2004/017768 A1**

(51) Clasificación Internacional de Patentes<sup>7</sup>: A23L 1/33,  
I/015, A22C 29/02

(74) Mandatario: PARRA MALDONADO, Benjamín; Car-  
reta a La Victoria Km. 0.6, Apdo Postal 1735, Hermosillo,  
Sonora 83000 (MX).

(21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/MX2002/000083

(22) Fecha de presentación internacional:  
22 de Agosto de 2002 (22.08.2002)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(81) Estados designados (*nacional*): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,  
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,  
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR,  
KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK,  
MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU,  
SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(71) Solicitante (*para todos los Estados designados salvo  
US*): CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN ALI-  
MENTACIÓN Y DESARROLLO, A.C. [MX/MX];  
Carretera a la Victoria Km. 0.6, Apdo. Postal 1735,  
Hermosillo, Sonora 83000 (MX).

(84) Estados designados (*regional*): patente ARIPO (GH, GM,  
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), patente  
euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),  
patente europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,  
ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SK, TR),  
patente OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,  
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (*para US solamente*): HIGUERA  
CIAPARA, Inocencio [MX/MX]; Calle San Anto-  
nio No.24. Col Prados del Centenario, Hermosillo,  
Sonora, 83260 (MX). TOLEDO GUILLÉN, Alma,  
Rosa [MX/MX]; Priv. Abelardo L. Rodríguez No.18,  
Col. Centenario. C.P. 83260, Hermosillo, Sonora (MX).  
NORIEGA OROZCO, Lorena, Olivia [MX/MX]; Calle  
Los Arcos No.9, Col. Los Arcos-San Carlos. C.P. 85506,  
Guaymas, Sonora (MX). MARTÍNEZ ROBINSON,  
Karla, Guadalupe [MX/MX]; Calle Oaxaca No. 92 A,  
Col. Centro. C.P. 83000, Hermosillo, Sonora (MX).

Declaración según la Regla 4.17:

— sobre la calidad de inventor (Regla 4.17(iv)) sólo para US

Publicada:

— con informe de búsqueda internacional

Para códigos de dos letras y otras abreviaturas, véase la sección  
"Guidance Notes on Codes and Abbreviations" que aparece al  
principio de cada número regular de la Gaceta del PCT.

(54) Title: LOW-CHOLESTEROL SHRIMP AND METHOD OF OBTAINING SAME

(54) Título: CAMARÓN CON CONTENIDO BAJO DE COLESTEROL Y PROCESO PARA SU OBTENCIÓN

(57) Abstract: The invention relates to shrimp having a low cholesterol content compared to existing shrimp which contain an excessive level of cholesterol for current food consumption habits. The invention also relates to the method of obtaining said shrimp consisting in dehydrating the shrimp and placing said shrimp in a supercritical extraction device in order to reduce the cholesterol content thereof to the level required in order for same to be considered as food with reduced and low cholesterol in accordance with the nutritional content guidelines set by the US Food and Drug Administration. According to the invention, the shrimp is subsequently rehydrated and cooked. The characteristic high protein content and low fat content of the shrimp remain the same. The shrimp thus obtained is characterised in that it offers the advantage of containing less cholesterol and in that the sensory attributes thereof are acceptable to the consumer.

(57) Resumen: Camarón con contenido bajo de colesterol en comparación al camarón existente, el cual contiene una cantidad demasiado elevada para los hábitos de consumo alimentario actuales. El proceso para su obtención, el cual consiste en someter el camarón a una etapa de deshidratación y colocarlo en un equipo de extracción supercrítica, con la finalidad de reducir su contenido de colesterol a la cantidad requerida para ser considerado un alimento de contenido nutricional reducido y bajo en colesterol, de acuerdo con los lineamientos establecidos por la Administración de Drogas y Alimentos de los E.U.A (FDA), rehidratarlo y cocinarlo. El camarón así obtenido, cuya característica y ventaja es su contenido menor de colesterol, no ve afectado su contenido alto en proteínas y bajo en grasas propias de su naturaleza, y presenta características sensoriales aceptables por el consumidor.

WO 2004/017768 A1

Title: LOW-CHOLESTEROL SHRIMP AND METHOD OF  
OBTAINING SAME

Applicant: HIGUERA CIAPARA, et al.

Express Mail No: EV310 126 587US

Filed 22 February 2005

Atty Docket No: 73294-010200/US

**CAMARÓN CON CONTENIDO BAJO DE COLESTEROL  
Y PROCESO PARA SU OBTENCIÓN**

5

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a camarón con contenido bajo de colesterol, especialmente para su uso en la industria alimenticia dirigida al consumidor. Más específicamente, la invención se relaciona con el problema de producir alimentos con una cantidad reducida de colesterol, motivado por el resultado de numerosas investigaciones, las cuales han sugerido que el colesterol ingerido en la dieta constituye un factor de riesgo en el desarrollo de enfermedades coronarias (Grundy et al., 1982).

Un segundo objeto de esta invención es proporcionar un procedimiento para la producción de camarón con un contenido bajo de colesterol, el cual ingresaría al mercado como un producto de alto valor agregado proveniente del sector camaronero, dada la creciente demanda para alimentos con contenido bajo de colesterol.

Entre los diversos métodos propuestos para la reducción de colesterol en alimentos se encuentra la técnica de Extracción con Fluidos Supercríticos, la cual ha adquirido en años recientes una creciente importancia comercial en la industria de los alimentos. Cuando un fluido se calienta arriba de su temperatura crítica ( $T_c$ ) y se comprime a presiones superiores a su valor crítico ( $P_c$ ), es llamado fluido supercrítico. En el estado supercrítico, la distinción entre la fase líquida y la fase gaseosa desaparece y el fluido no puede licuarse con un incremento de la presión, volviéndose crecientemente más denso, ni puede formarse gas con un incremento de temperatura (Sihvonen et al., 1999). En este estado, el fluido adquiere propiedades termodinámicas y de transporte singulares, esto es, su densidad es relativamente alta, parecida a la de un líquido, lo que le confiere un buen poder solvente, en tanto que su viscosidad relativamente baja y difusividad relativamente alta como las de un gas, le proporcionan una gran capacidad de penetración dentro de la muestra. Debido a esto la rapidez de transferencia de masa de los solutos es mayor dentro de un fluido supercrítico que dentro de un líquido (Rizvi et al., 1986). Manipulando las condiciones de operación, el fluido

supercrítico tiene la capacidad de extraer selectivamente uno o más componentes específicos, como grasas, aceites, colesterol, cetonas, aldehídos y ésteres, dejando intactos proteínas, azúcares y otros carbohidratos (Dziezak, 1986). El principal solvente supercrítico que se utiliza en la industria de alimentos es el bióxido de carbono, ya que presenta importantes ventajas sobre otros solventes. Esto es: no es inflamable, no es corrosivo, no es tóxico, no contamina el ambiente, no deja residuos de solvente, su costo es bajo y su temperatura crítica (31,1°C) es relativamente baja, lo que lo hace adecuado en la extracción de materiales térmicamente inestables.

En la industria alimentaria se han establecido algunos procesos con la técnica de extracción supercrítica (ESC), con vistas a reducir el contenido de grasas y colesterol en alimentos de origen animal. No obstante, a la fecha no ha sido propuesto un proceso para la producción de camarón reducido en su contenido de colesterol aplicando ESC, ni por ningún otro tipo de procesamiento.

Cully, et al. (1991), Patente de Aplicación de la República Federal Alemana (DE-39-29-555-A1), determinaron un proceso para la eliminación de colesterol y ésteres de colesterol en alimentos, con bióxido de carbono supercrítico a presiones mayores a 100 bar y temperaturas de 10 a 90°C. Este procedimiento reduce el contenido de colesterol y ésteres de colesterol en un 60-90% en carne, huevos, productos lácteos y grasas animales.

McLachlan, et al. (1990), EPO356165, establecieron un procedimiento para la extracción de esteroides y/o componentes lipídicos (por ejemplo, colesterol y grasas) de alimentos proteicos como carne, usando fluidos en estado subcrítico y supercrítico, con un tratamiento inicial del producto en el que se remueve toda el agua libre, pero no el agua ligada en su totalidad, lo que da como resultado un producto de humedad intermedia. La remoción de humedad se lleva a cabo por liofilización hasta reducir la muestra a un contenido de humedad de 30-55%. Para la remoción de lípidos se utilizó bióxido de carbono supercrítico, separando enseguida el colesterol de la fracción bióxido de carbono-grasa por medio de un adsorbente selectivo. Posteriormente el producto se reconstituye con agua y grasa.

Si bien se ha dado un creciente desarrollo en la investigación de la tecnología de fluidos supercríticos, ofreciendo procedimientos para la remoción de

compuestos, en el estado de la técnica no se han reportado tratamientos de aplicación de esta tecnología en tejidos animales respetando su forma original. En la patente anteriormente citada, McLachlan et al. trataron trozos de alimentos como muestra, incluyendo en su proceso una etapa inicial de reducción de tamaño. A diferencia de ello, y aún cuando la extracción de colesterol del músculo intacto representara ciertas dificultades técnicas debido a la naturaleza fibrosa de la estructura muscular, en la producción del camarón objeto de esta invención se desarrolló un proceso en el cual no se da una reducción de tamaño a la muestra, esto con el objetivo de no sacrificar la presentación geométrica final del producto, respetando su forma original, y así satisfacer las exigencias del consumidor. Por lo mismo se incluyeron especies y tallas de camarón que cuentan con un alto índice de aceptabilidad entre los consumidores por su sabor y tamaño, aún cuando ello significa una cantidad mayor de colesterol a remover ya que el colesterol naturalmente presente en ellos es más elevado comparado con algunas otras especies, y aún cuando por su tamaño grande representa una mayor dificultad su remoción.

Como parte inicial del procesamiento de esta invención se llevó a cabo una etapa de deshidratación, buscando con ello dar lugar a la presencia de canales intramusculares en el alimento que facilitaran la subsecuente extracción de colesterol, al permitir la circulación del fluido extractor a través del tejido. Por otra parte, al ser el camarón un alimento altamente perecedero, la reducción de su contenido de humedad permite aminorar su susceptibilidad a sufrir daños durante el proceso y posterior almacenamiento.

A diferencia de la metodología propuesta por McLachlan, et al (1990), en donde se remueve el agua libre y sólo parte del agua ligada del alimento para obtener un producto de humedad intermedia, en el proceso objeto de la presente invención se redujo el contenido de humedad del camarón hasta únicamente un 1-10 %, esto como resultado del trabajo de estandarización hecho en la etapa de deshidratación, en donde se tuvo especial cuidado en prevenir la desnaturalización de las proteínas, lo que conlleva la liberación de la astaxantina, pigmento que se encuentra naturalmente presente en el músculo del camarón formando complejos carotenoproteicos azules, verdes o púrpuras, y que al ser liberado adquiere un característico color rojo, indicador de cocción.

De acuerdo a la referencia anteriormente citada, con un producto de humedad intermedia se evitan efectos adversos en las características sensoriales del producto reconstituido, las cuales sí se presentarían en alimentos sometidos a un tratamiento de deshidratación de contenido final de humedad de 15% o menos.

5 Sin embargo, en la presente invención, aún y cuando el contenido de humedad del alimento deshidratado fue de un 1 a 10%, fue posible obtener un producto final reconstituido con características sensoriales aceptables por el consumidor.

Para tal fin, una vez llevada a cabo la extracción de colesterol deseada en el alimento, se desarrolló una cuidadosa metodología de las etapas subsecuentes  
10 de reconstitución y presentación final del producto.

En la reconstitución del camarón, con diversas metodologías ideadas se obtuvo un índice de rehidratación aceptable, el cual no es posible alcanzar si se aplica la metodología tradicional de rehidratación (la cual consiste en sumergir los camarones en un exceso de agua a temperatura ambiente, por un lapso de  
15 tiempo) al camarón deshidratado sometido a ESC.

Con el objeto de evaluar los procedimientos de rehidratación, se aplicó un análisis sensorial al camarón rehidratado y cocido. Debido a la poca aceptación de la textura del camarón en la prueba anterior, se probaron distintas formas y condiciones de cocción (inmersión en agua hirviendo, cocinado con microondas y  
20 cocinado con vapor) y diversas condiciones de rehidratación que minimizaran el efecto adverso del procesamiento, tanto en el producto deshidratado como en el deshidratado y sometido a la etapa de extracción supercrítica de colesterol. Como resultado de ello se obtuvo un producto evaluado positivamente en sus características sensoriales. La metodología resultante permite una buena  
25 rehidratación del camarón, con la ventaja adicional de que únicamente se requiere agua para su reconstitución, esto es, no es necesario la adición de ablandadores como polifosfatos, sazonzadores y otros ingredientes para la presentación final del producto.

Si bien en el estado de la técnica se menciona un procedimiento de  
30 extracción de colesterol en alimentos, comprendiendo las etapas de deshidratación, remoción de colesterol con extracción supercrítica y reconstitución del producto, en él se siguen metodologías y/o condiciones de operación particulares distintas, las cuales no resultan aplicables al tejido característico del

camarón por ser éste de más rápida y fácil cocción que el de los alimentos contemplados en el procedimiento citado, al presentar proteínas más termolábiles y por ende requerir de un mayor cuidado en su procesamiento.

Con el proceso propuesto en la presente invención se consigue obtener un producto nuevo, camarón con contenido bajo de colesterol, satisfactorio en sus características sensoriales, y que conserva sus propiedades nutricionales favorables, esto es su bajo contenido en grasa (1% o menos) y relativamente alto contenido en proteínas (15 a 20%).

10

### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a camarón con contenido bajo de colesterol, haciendo referencia a todas las especies del subgénero *Litopenaeus* (*L. occidentalis*, *L. schmitti*, *L. setiferus*, *L. stylirostris*, *L. vannamei*). No obstante, el procedimiento es aplicable a camarón de otros géneros, subgéneros y especies en sus diferentes tallas. Existe una variabilidad natural en el contenido de colesterol presente en camarón de acuerdo con la especie. Sin embargo, solo se requiere un poco de rutina de estandarización al procedimiento propuesto, sin restarle por ello mérito a la invención. Es importante señalar que lo anterior consiste en la modificación a un mayor o menor volumen de fluido supercrítico, de acuerdo al mayor o menor contenido a remover de colesterol, así como a una ligera variación en la temperatura para contenidos menores o mayores de colesterol.

Un segundo aspecto de la invención involucra el proceso para la obtención de dicho camarón. Para ello se utilizan camarones sin cabeza y cáscara como materia prima. El procedimiento propuesto consiste en someter inicialmente los camarones con las características citadas a una etapa de deshidratación. Los camarones deshidratados pasan inmediatamente a la siguiente etapa de procesamiento, la cual consiste en la extracción de colesterol del camarón con un solvente que es altamente selectivo para lípidos a una temperatura y presión dadas. Para tal efecto se utiliza un equipo de extracción supercrítica y se emplea bióxido de carbono como fluido extractor. Los camarones deshidratados se colocan en la unidad de extracción del equipo. El bióxido de carbono líquido fluye

desde el tanque de almacenamiento y se hace pasar a través del compresor del equipo extractor para llevarlo a una presión supercrítica de 100 a 400 bar. El gas resultante entra a la unidad extractora provista de una chaqueta de calentamiento que permite mantener la temperatura de extracción en un rango de 30 a 60°C, y  
5 pasa a través de la muestra de camarón arrastrando consigo el colesterol. Este proceso se puede aplicar a camarones de las diferentes especies y tallas variando únicamente las condiciones de operación. El gas descargado junto con el extracto pasan por una válvula de expansión. Es entonces cuando se lleva a cabo la separación del gas por precipitación, liberando el extracto, ya que una variación  
10 de la presión a condiciones supercríticas implica una reducción de la densidad y como consecuencia una disminución de su capacidad de disolución.

Los camarones deshidratados y con un contenido menor de colesterol obtenidos se reconstituyen utilizando agua, en una relación de 1 a 10 mL por gramo de camarón. La rehidratación se realiza colocándolos en una cámara con  
15 vacío a temperatura ambiente por un periodo de tiempo de 1 a 5 horas. El camarón rehidratado se cocina con vapor para su presentación al consumidor en su forma original.

El producto final que se obtiene en este proceso, camarón con contenido bajo de colesterol, constituye un alimento no existente hasta antes de la presente  
20 invención y cumple con los requerimientos de etiquetado nutricional establecidos para un alimento de contenido reducido y bajo en colesterol, de acuerdo a los lineamientos estipulados por la Administración de Drogas y Alimentos de los E.U.A. (FDA). Conforme a ellos, un producto considerado reducido en colesterol debe contener 75% o menos colesterol que el alimento de referencia y un  
25 producto bajo en colesterol debe contener de 2 a 20 mg de colesterol por porción comestible (FDA, 1986). En estos valores se permite un error estándar del 20%, por lo cual es aceptable un contenido de colesterol de menos de 24 mg por porción comestible para alimentos bajos en colesterol (FDA, 1990).

La presentación final del producto objeto de esta invención, piezas enteras  
30 de camarón y no trozos pequeños o polvo como ha sido la presentación hasta hoy de los restantes productos tratados con la técnica de ESC, es otro de los elementos novedosos de esta aplicación, lo que le permite conservar su forma geométrica original. Asimismo, el camarón sigue presentando las características

sensoriales propias de su naturaleza. Se aplicó un análisis sensorial de aceptación en el que se evaluó camarón deshidratado y con colesterol removido por ESC, el cual se rehidrató y cocinó. Dicho camarón correspondió a la categoría de camarón bajo en colesterol (menos de 24 mg/porción comestible). La prueba se aplicó a un panel de 30 sujetos no entrenados. Se evaluaron los atributos de: olor, sabor, textura, color y apariencia general. La escala de evaluación fue de 7 puntos: -3 a +3. En el análisis estadístico se utilizó la prueba no paramétrica Kolmogorov-Smirnov. En todos los parámetros evaluados se tuvo una respuesta positiva por parte de los panelistas, no observándose diferencia significativa en la escala de aceptación. Los atributos de textura y sabor tuvieron una aceptación moderada (+2), mientras que olor, color y aspecto general presentaron ligera aceptación (+1) (Fig. 1). En relación al olor y sabor, diversos panelistas los consideraron positivamente debido a que no eran tan penetrantes como suele presentarse en un camarón no fresco. Estos resultados brindan perspectivas muy promisorias para la aceptación del consumidor del camarón con contenido bajo de colesterol sometido a este proceso.

Se ofrece el siguiente ejemplo para ilustrar adicionalmente la novedad y utilidad de la presente invención, pero no con la intención de limitar indebidamente la misma.

#### EJEMPLO

Como materia prima se utiliza camarón azul (*Litopenaeus stylirostris*) y camarón blanco (*Litopenaeus vannamei*), talla 16/20, sin cabeza, el cual se mantiene en congelación (-18°C) hasta su procesamiento.

La materia prima se descongela y descascara manual o mecánicamente. Una vez sin cáscara, el camarón se congela individualmente a -40°C por un período de 4 horas, en una cámara de congelamiento rápido. Posteriormente el camarón se somete a un proceso de liofilización hasta alcanzar un contenido de 1 a 5% de humedad. Para ello se utiliza un equipo liofilizador de charolas. Los camarones congelados se colocan en la cámara del liofilizador, la cual inicialmente se programa a una temperatura de -40°C. La temperatura interior y superficial de los camarones es monitoreada con la ayuda de termopares. Una



vez que el equipo alcanza un vacío de 0.1 mm Hg se inicia el siguiente programa de condiciones:

|   | Temperatura | Tiempo             |
|---|-------------|--------------------|
|   | °C          | hs                 |
| 5 | 29          | 1                  |
|   | 0           | 1                  |
|   | 50          | 4-5 <sup>a</sup>   |
|   | 35          | 15-20 <sup>b</sup> |
|   | 25          | 1-3 <sup>c</sup>   |

10 <sup>a</sup> El tiempo va a depender del valor de vacío que se va presentando, el cual no debe superar los 0.2 mm Hg.

<sup>b</sup> El tiempo va a depender de cuando los camarones alcancen una temperatura máxima de 5 a 10°C.

15 <sup>c</sup> Dependiendo de cuando la temperatura interna de los camarones iguale a la temperatura superficial de los mismos.

Una vez completada la liofilización, el camarón pasa a la etapa de remoción de colesterol.

La extracción de colesterol se lleva a cabo con un solvente selectivo (bióxido de carbono) para colesterol, a una presión y temperatura supercríticas de 20 310 bar y 37°C. Para tal efecto se utiliza un equipo de extracción supercrítica con bióxido de carbono. El sistema de extracción consiste de cuatro componentes básicos: un compresor o bomba del solvente, un extractor, un sistema de control presión/temperatura y un separador.

El camarón liofilizado se coloca en la unidad de extracción del sistema. El 25 bióxido de carbono fluye desde el tanque de almacenamiento y se hace pasar a través del compresor del equipo extractor para llevarlo a la presión supercrítica de 310 bar. El gas resultante entra a la unidad extractora provista de una chaqueta de calentamiento, que permite mantener la temperatura de operación a 37°C. Al estar en contacto el bióxido de carbono con la muestra de camarón bajo una presión y 30 temperatura seleccionadas, se extraen selectivamente los componentes que son solubles en él. El gas arrastra consigo el extracto constituido principalmente por colesterol. El volumen de bióxido de carbono se mide en un contabilizador de volumen. La velocidad del fluido extractor a través del sistema se mantiene en 5,5 –

6,2 L/min, aún cuando se pueden utilizar otras velocidades de flujo. El bióxido de carbono, así como el extracto, se hacen pasar a través de una válvula de expansión con la finalidad de ser separados.

Una vez completados 1875 L de bióxido de carbono, el camarón liofilizado y  
5 sometido a extracción supercrítica se descarga. El volumen de bióxido de carbono gastado se puede recuperar por recirculación y ser reutilizado.

La muestra de camarón previamente liofilizada y sometida a ESC se rehidrata a temperatura ambiente, siguiendo una relación de 5 mL de agua purificada por gramo de camarón. La rehidratación se lleva a cabo en atmósfera de vacío (533.4  
10 mm Hg). Para ello se coloca horizontalmente el camarón en un recipiente con el agua, y se le aplica vacío por 1 hora. Al término de este tiempo se voltea el camarón dejando expuesto ahora el otro lado y se rehidrata a las mismas condiciones por 1 hora más.

El camarón sometido a ESC y rehidratado de esta manera, se coloca en un  
15 recipiente a vapor por un período de 6 minutos, tiempo menor al requerido para el camarón fresco. El camarón rehidratado o rehidratado y cocido, se empaca al vacío y se coloca en una cámara de congelación rápida para su congelación individual a -40°C.

El producto final que se obtiene con estas condiciones de proceso (presión  
20 supercrítica de 310 bar, temperatura supercrítica de 37°C y volumen de bióxido de carbono de 1875 L), cumple con los requerimientos establecidos para un alimento bajo en contenido de colesterol, de acuerdo a los lineamientos de la FDA (2 a 20 mg de colesterol/porción comestible, permitiendo un error estándar de 20% en estos valores).

25

## DISEÑO EXPERIMENTAL

En la experimentación de la presente invención, con la finalidad de encontrar las condiciones de operación que permiten la remoción de colesterol a camarón  
30 en la etapa de extracción supercrítica (ESC), se siguió la metodología de superficie de respuesta (MSR). Para ello se aplicó un diseño compuesto centrado rotatorio (DCCR) para tres variables independientes con cinco niveles. El número de puntos experimentales en el DCCR es suficiente para probar la validez

estadística del modelo cuadrático a obtener (Arteaga et al., 1994). Las variables utilizadas en la etapa de extracción de colesterol fueron: Presión ( $X_1$ ), Volumen ( $X_2$ ) y Temperatura ( $X_3$ ). Los niveles mínimos y máximos de las variables se fijaron de acuerdo a resultados obtenidos en experimentación preliminar. La variable de respuesta ( $Y$ ) fue la cantidad de colesterol remanente en el camarón liofilizado tratado con ESC y determinado por cromatografía de gases (CG).

En el Cuadro I se muestran los valores promedio de la cantidad de colesterol remanente en camarón tratado con ESC, obtenidos por CG, y su correspondiente porcentaje de extracción.

10

CUADRO I

| TRATAMIENTO | $X_1$<br>P<br>(bar) | $X_2$<br>V<br>(Lco2) | $X_3$<br>T<br>(°C) | Y<br>COLESTEROL<br>(mg/100g)<br>base seca | COLESTEROL<br>(mg/porción)<br>comestible)<br>base húmeda | % DE<br>EXTRACCIÓN |
|-------------|---------------------|----------------------|--------------------|---|--|--------------------|
| 1           | 289                 | 909                  | 36                 | 225,10                                    | 52,25  | 61,99              |
| 2           | 331                 | 909                  | 36                 | 292,71                                    | 67,95  | 50,56              |
| 3           | 289                 | 2841                 | 36                 | 151,41                                    | 35,15  | 74,43              |
| 4           | 331                 | 2841                 | 36                 | 81,96                                     | 19,26  | 85,99              |
| 5           | 289                 | 909                  | 38                 | 224,88                                    | 52,20  | 62,02              |
| 6           | 331                 | 909                  | 38                 | 211,06                                    | 49,00  | 64,35              |
| 7           | 289                 | 2841                 | 38                 | 72,19                                     | 16,76  | 87,81              |
| 8           | 331                 | 2841                 | 38                 | 52,02                                     | 12,08  | 91,21              |
| 9           | 275                 | 1875                 | 37                 | 114,25                                    | 26,52  | 80,70              |
| 10          | 345                 | 1875                 | 37                 | 99,23                                     | 23,03  | 83,24              |
| 11          | 310                 | 250                  | 37                 | 366,61                                    | 85,11  | 38,08              |
| 12          | 310                 | 3500                 | 37                 | 62,14                                     | 14,43  | 89,50              |
| 13          | 310                 | 1875                 | 35                 | 125,44                                    | 29,12  | 78,81              |
| 14          | 310                 | 1875                 | 39                 | 97,25                                     | 22,58  | 83,57              |
| 15          | 310                 | 1875                 | 37                 | 99,68                                     | 23,14  | 83,16              |

A fin de generar una ecuación que prediga el efecto de las condiciones de operación ( $X_1$ ,  $X_2$  y  $X_3$ ) en la cantidad de colesterol remanente en camarón liofilizado tratado con ESC ( $Y$ ), se corrió un programa de regresión. Mediante un análisis de regresión múltiple se ajustó un modelo cuadrático, con el cual se generó la siguiente ecuación de regresión final:

$$Y = 6065,3575 - 0,608833 P + 0,1424819 V - 303,0457 T + 0,0147289 P^2 - 0,000884 VP + 0,0000475 V^2 - 0,191346 TP - 0,003532TV + 4,7773254 T^2$$

donde:

5 Y = Colesterol remanente en camarón (mg/100g), base seca

P = Presión de extracción supercrítica (bar)

V = Volumen de bióxido de carbono (L)

T = Temperatura de extracción supercrítica (°C)

10 Los resultados del análisis de varianza para el modelo cuadrático de predicción se presentan en el Cuadro II. En él se observa un efecto significativo ( $p \leq 0,05$ ) del modelo ajustado. A su vez, la falta de ajuste resultó no significativa ( $p > 0,05$ ). Esta información, al igual que el valor de  $R^2$  obtenido (0,9537) sustentan la validez del modelo.

15

CUADRO II

| FUENTE DE VARIACION | G.L. | SUMA DE CUADRADOS | VARIANZA | F     | p        | $R^2$    |
|---------------------|------|-------------------|----------|-------|----------|----------|
| Modelo              | 9    | 121477,4          | 13497,49 | 18,31 | 0,000202 | 0,953705 |
| Efecto lineal       | 3    | 94030,26          | 31343,42 | 42,52 | 0,000029 | 0,738221 |
| Efecto cuadrático   | 3    | 24653,4           | 8217,8   | 11,15 | 0,003140 | 0,193551 |
| Interacciones       | 3    | 2793,743          | 931,2475 | 1,26  | 0,350317 | 0,021933 |
| Error total         | 8    | 5896,731          | 737,0914 |       |          | 0,046295 |
| Falta de ajuste     | 5    | 5288,337          | 1057,667 | 5,22  | 0,102269 | 0,041518 |
| Error puro          | 3    | 608,3936          | 202,7978 |       |          | 0,004776 |

De acuerdo al análisis de varianza se encontraron efectos lineales y cuadráticos significativos ( $p \leq 0,05$ ) en la extracción supercrítica de colesterol, siendo el factor más importante el efecto cuadrático de volumen.

20 En la Fig. 2 se presenta una gráfica de superficie de respuesta que ilustra la ecuación de regresión final obtenida en esta experimentación. Aquí se observa el efecto de las condiciones de operación de la ESC en el contenido de colesterol remanente en camarón (base seca), presentándose en ella distintos volúmenes de extracción requeridos, acordes al contenido de colesterol final en camarón deseado.

25

La gráfica expuesta en la Fig. 3 muestra la cantidad de colesterol remanente en el camarón (base seca), como una función de la temperatura a distintos volúmenes de bióxido de carbono y a una presión de 345 bar. En ella se puede observar que a dicha presión, la cantidad de colesterol remanente disminuye conforme se incrementa el volumen de bióxido de carbono con respecto a la temperatura. En un fluido supercrítico, el efecto de la temperatura en la solubilidad es algo complejo por causa de dos efectos concurrentes; un efecto tiende a incrementar la solubilidad con un incremento de temperatura, mientras que el otro tiende a disminuirla. Conforme la temperatura se incrementa la presión de vapor del soluto se incrementa, lo cual tiende a incrementar la solubilidad. Por otra parte, la densidad disminuye, lo cual tiende a disminuirla. En esta región experimental la densidad es menos sensible a la temperatura y la presión de vapor es el efecto dominante, por lo que con el incremento de temperatura se aumenta la solubilidad. La temperatura en la que se obtiene el mínimo contenido de colesterol remanente es de 39°C (11,77 mg/100g base seca). No obstante, la cantidad de 100 mg de colesterol remanente por cada 100 g de camarón (base seca) es suficiente para lograr que el producto obtenido, rehidratado y cocinado, cumpla con el contenido de colesterol exigido para ser considerado como bajo en contenido de colesterol (esto es, menos de 24 mg/100g de colesterol/porción comestible de camarón en base húmeda).

En la Fig. 4 se observa que con las condiciones utilizadas en el ejemplo citado en esta invención (presión de extracción supercrítica de 310 bar, temperatura de extracción supercrítica de 37°C y volumen de bióxido de carbono de 1875 L), se llega a la cantidad de colesterol de 100 mg de colesterol remanente por cada 100 g de camarón en base seca. Si bien en las Figuras 3 y 4 se observa que con diferentes combinaciones de condiciones de operación en la etapa de ESC se logra el mismo resultado, las condiciones señaladas son las menos drásticas, con lo que se disminuyen en gran medida los efectos adversos en las propiedades sensoriales del producto final, camarón bajo en colesterol.

## BIBLIOGRAFÍA

Arteaga, G.E., E. Li-Chan, M.C. Vazquez-Arteaga y S. Nakai. 1994. Systematic

- experimental designs for product formula optimization. Trends in Food Science & Technology (5):243-254.
- Cully J., Vollbrecht Heinz-Ruediger y Schuetz E. 1991. Process for the removal of cholesterol and/or cholesterol esters from foodstuffs. DE3929555.
- 5 Dziejak, J.D. 1986. Innovative separation process finding its way into the food industry. Food Technology. 66-69.
- FDA. 1986. Proposals for Cholesterol-free and Low Cholesterol Foods. U.S. Food and Drug Administration. Fed. Register (Nov 25) 51:42584.
- FDA. 1990. Food labeling. (1) Definition of Terms, Cholesterol-free, Low
- 10 Cholesterol and Reduced Cholesterol; Tentative Final Rules. U.S. Food and Drug Administration. Fed. Register (July 19) 55:29456.
- Grundy, S.M., Biheimer, D., Blackburn, H., Brown, W.V., Kwiterovich, P.O., Mattson, F., Schonfeld, G., y Weidman, W.H. 1982. Rationale of the dietheart statement of the American Heart Association, Report of the Nutrition Committee,
- 15 Circulation, 65: 839A-854A.
- McLachlan, C.N.S., Catchpole, O.J. y Nicol, R.S. 1990. Removal of lipids from foodstuffs. European Patent Application EP0356165A1.
- Rizvi, S.S.H., A.L. Benado, J.A. Zollweg y J.A. Daniels. 1986. Supercritical fluid extraction: fundamental principles and modeling methods. Food Technology
- 20 40(6):55-65.
- Sihvonen, M., E. Järvenpää, V. Hietaniemi y R. Huopalahti. 1999. Advances in supercritical carbon dioxide technologies. Trends in Food Science & Technology 10:217-222.

## REIVINDICACIONES

Habiendo descrito nuestra invención, consideramos como una novedad y por lo tanto reclamamos de nuestra propiedad, lo contenido en las siguientes reivindicaciones:

1. Un producto, camarón con contenido menor de colesterol al que se encuentra naturalmente presente, que cumple con los requerimientos de etiquetado de contenido nutricional de los alimentos de la Administración de Drogas y Alimentos de los E.U.A. (FDA), para camarón reducido (75% o menos colesterol que el alimento de referencia) y bajo en colesterol (menos de 24 mg por porción comestible).

2. Un producto, camarón con contenido menor de colesterol al existente, adecuado para su consumo y que conserva las características nutricionales favorables del camarón común, esto es, un contenido de proteína de 15 a 25% y un contenido de grasa inferior al 1%; caracterizado además con un contenido de minerales de 1 a 3% y un porcentaje de humedad de 50 a 80%, y que presenta propiedades sensoriales y presentación final aceptables.

3. El producto de la reivindicación 1 en presentación entera, en sus tallas U/10, U/12, U/15, 16/20, 21/25, 26/30, 31/35, 31/40, 36/40, 41/50, 51/60, 61/70, 71/80 y 80-over.

4. El producto de la reivindicación 1 en presentación entera, preferentemente en talla 16/20.

5. El uso del producto, camarón con contenido menor de colesterol, cuya presentación se encuentra lista para su consumo así como para la adición de sazónadores, pudiendo incluirse en la presentación de otros platillos.

6. Un proceso para la obtención de camarón con contenido menor de colesterol al que naturalmente se encuentra presente, que consiste en deshidratar el camarón y colocarlo en un equipo de extracción supercrítica con la finalidad de ponerlo en contacto con el fluido extractor, hasta reducir el contenido de colesterol a la cantidad deseada, para posteriormente rehidratarse y cocinarse.

7. El proceso de conformidad con la reivindicación 6, en el que no se da una reducción de tamaño al alimento y se deshidrata hasta un contenido de humedad de 1 a 10%.

8. El proceso, de conformidad con la reivindicación 6, que consiste en deshidratar el camarón, preferentemente liofilizarlo hasta un 1 a 10% de contenido de humedad, en el que los camarones congelados se colocan en la cámara del liofilizador, la cual inicialmente se programa a una temperatura de  $-40^{\circ}\text{C}$ , y en el
- 5 que una vez que el equipo alcanza un vacío de 0.1 mm Hg se aplica el siguiente programa de condiciones:

|    | Temperatura        | Tiempo             |
|----|--------------------|--------------------|
|    | $^{\circ}\text{C}$ | hs                 |
| 10 | 29                 | 1                  |
|    | 0                  | 1                  |
|    | 50                 | 4-5 <sup>a</sup>   |
|    | 35                 | 15-20 <sup>b</sup> |
|    | 25                 | 1-3 <sup>c</sup>   |

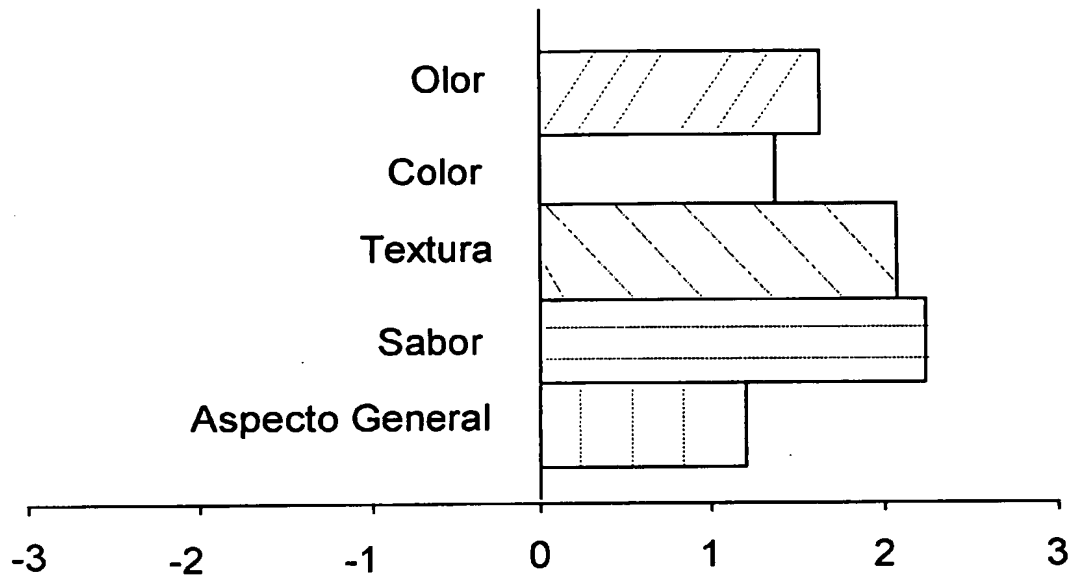
- <sup>a</sup> El tiempo va a depender del valor de vacío que se va presentando, el cual no
- 15 debe superar los 0.2 mm Hg.

<sup>b</sup> El tiempo va a depender de cuando los camarones alcancen una temperatura máxima de 5 a  $10^{\circ}\text{C}$ .

<sup>c</sup> Dependiendo de cuando la temperatura interna de los camarones iguale a la temperatura superficial de los mismos.

- 20 9. El proceso de acuerdo a la reivindicación 6, en donde el camarón se rehidrata preferentemente en atmósfera de vacío (533.4 mm Hg) a temperatura ambiente, por un tiempo de 1 a 5 horas, siguiendo una relación de 1 a 10 mL de agua por gramo de camarón.

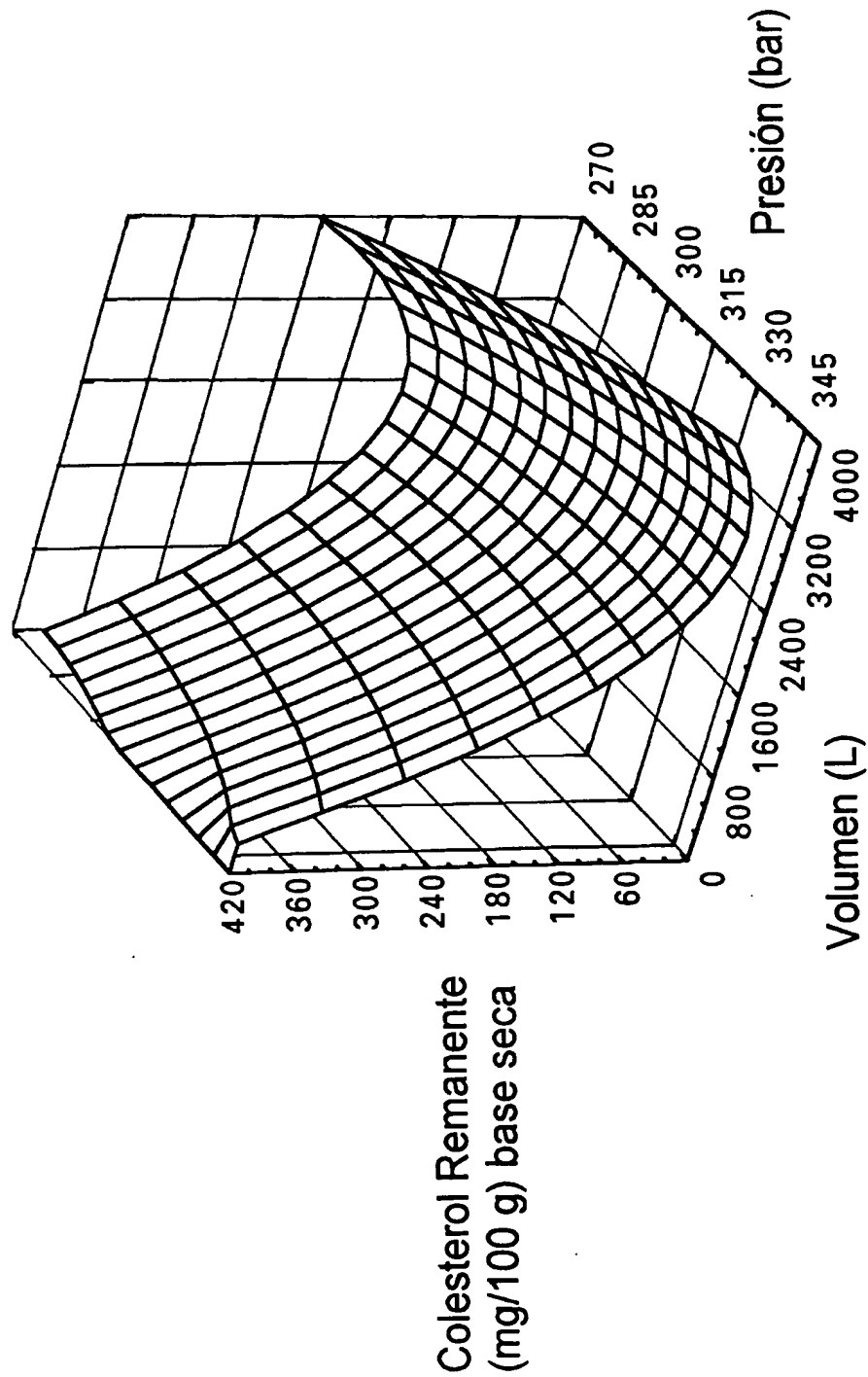


**Fig. 1**

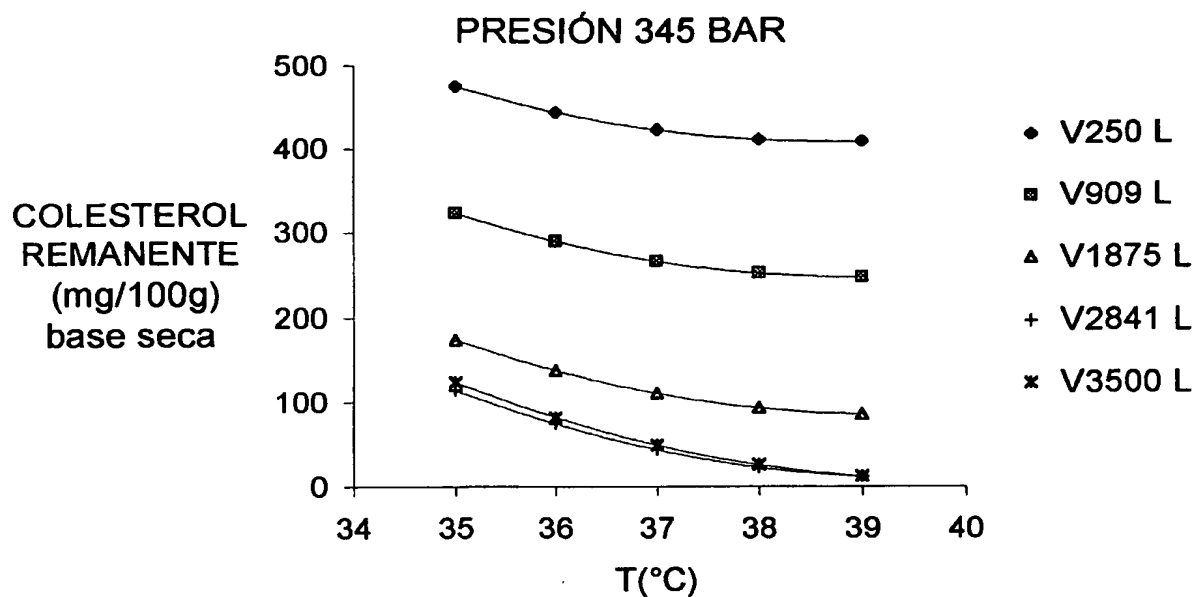
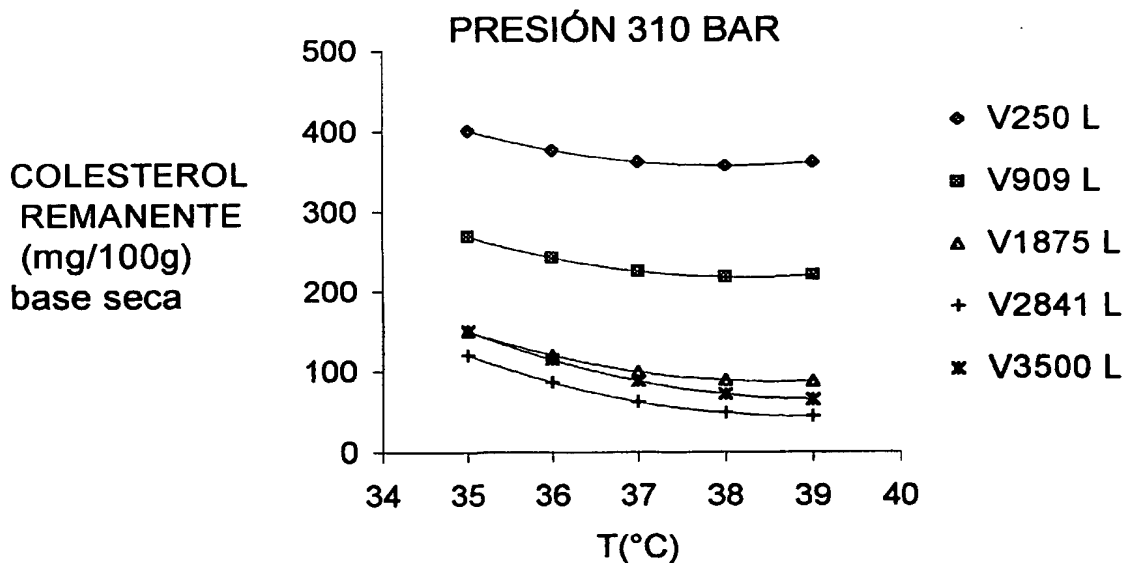
- 3 Me disgusta mucho
- 2 Me disgusta moderadamente
- 1 Me disgusta ligeramente
- 0 Ni me gusta ni me disgusta
- +1 Me gusta poco
- +2 Me gusta moderadamente
- +3 Me gusta mucho

Fig. 2

Temperatura de extracción 37 °C



3/3

**Fig. 3****Fig. 4**

Title: LOW-CHOLESTEROL SHRIMP AND METHOD OF OBTAINING SAME

Applicant: HIGUERA CIAPARA, et al.

Express Mail No: EV310 126 587US

Filed 22 February 2005

Atty Docket No: 73294-010200/US